

**DER EINFLUSS DES KONSERVIERUNGSMITTELS
CIALIT AUF DIE ANTIGENIZITÄT XENOGENER
KNÖCHERNER UND BINDEGEWEBIGER
TRANSPLANTATE**

Heinrich-Georg Jöckel

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der
Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. H. H. Neumann)

DER EINFLUSS DES KONSERVIERUNGSMITTELS CIALIT AUF DIE
ANTIGENIZITÄT XENOGENER KNÖCHERNER
UND BINDEGEWEBIGER TRANSPLANTATE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Heinrich-Georg Jöckel
aus
Gelsenkirchen-Buer

München 1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Prof. Dr. E. R. Kastenbauer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. H. Naumann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3.10.1978



Herrn Prof. Dr. med. E. A. Kastenbauer danke ich
für die Überlassung des Themas und seine wertvollen
Anregungen bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

- A Einleitung
 - Histokompatibilität - ein bedeutsamer Faktor der Transplantationschirurgie
- B Hauptteil
 - Allgemeines über bindegewebige Substanzen
 - I Die Transplantation bindegewebiger Substanzen
 - a) Die Transplantation von Knochen
 - b) Die Transplantation von allogenem Bindegewebe (Trommelfell)
 - c) Problemstellung
 - d) Die Transplantation von menschlichen Gehörknöchelchen (mit und ohne Cislitkonservierung) auf das Kaninchen
 - e) Die Transplantation von menschlichen Trommelfellen (mit und ohne Cislitkonservierung) auf das Kaninchen
 - f) Biochemische Untersuchungen der menschlichen Gehörknöchelchen und Trommelfelle
- C Eigene experimentelle Untersuchungen
 - I Untersuchungen der Antiseren im Ouchterlony - Test
 - a) nach Cislitkonservierung
 - b) ohne Cislitkonservierung
 - II Histologische Ergebnisse
 - a) nach Cislitkonservierung
 - b) ohne Cislitkonservierung
- D Schlußteil
 - I Zusammenfassung der experimentellen Ergebnisse
 - II Schlußfolgerung
- E Literaturverzeichnis

Glossar

GKE : Gehörknöchelchenextrakt vom Menschen

Trfl: Trommelfelleextrakt vom Menschen

NKS : Normales Kaninchenserum

HS : Humenserum

Cisalit : organische Quecksilberverbindung ($C_6H_5 \cdot COONa \cdot OC = NS \cdot Hg \cdot C_2H_5$) mit 45 % Hg, wird in einer Verdünnung von 1:5000 verwandt. Diese Verdünnung besitzt eine starke bakterizide und fungizide Wirkung.

Merthiolat : organische Quecksilberverbindung (Äthymercurithiosalicylsäure Na-Salz) wird in einer Verdünnung von 1:500 verwandt.

A Einleitung

Die Transplantation von Fremdgewebe zur Überbrückung von Gewebedefekten hat in den vergangenen drei Jahrzehnten die medizinische Wissenschaft zunehmend beeinflusst. Dabei bedeutet die Abstoßungsreaktion eine häufige Komplikation bei Frematransplantaten und ist Ausdruck einer Immunreaktion des Empfängergewebes: fremde Transplantationsantigene erzeugen nach einer Latenzzeit eine zelluläre Reaktion (7). Die Dauer dieser Latenzzeit hängt weitgehend vom genetischen Verwandtschaftsgrad von Spender- und Empfängerspezies ab (4). Aber auch andere Faktoren, wie die Durchblutung des Transplantates, die Vorsensibilisierung oder die immunologische Reaktionslage des Wirtes, bestimmen eine Immunantwort (21, 39).

Ein Standardbeispiel für eine problemlose Transplantation von allogenem Gewebe stellt die Übertragung der Cornea dar. Wie wir wissen, bieten sich hierbei äußerst günstige Bedingungen für die Tolerierung eines Fremdtransplantates. Da die Cornea durch Diffusion ernährt wird und jede Gefäßversorgung fehlt, vermag der Organismus das transplantierte Gewebe nicht als fremd zu erkennen, womit eine immunologische Abwehrreaktion unterbleibt.

Sobald ein Transplantat jedoch Kontakt mit dem Gefäßsystem des Empfängers bekommt, wird es über das Immunsystem erkannt und angegriffen. Im kongruenten Zellverband heilt autogenes Gewebe in der Regel problemlos ein, da keine Antigendifferenz besteht.

Allogenes und xenogenes Gewebe wird nach dem Grad der Histoinkompatibilität und dem Ausmaß des Kontaktes mit immunologisch kompetenten Zellen mehr oder weniger rasch abgestoßen.

Bei diesen Transplantaten entscheidet daher weitgehende Histokompatibilität über den Erfolg einer Operation mit Fremdgewebe.

Verständlicherweise konzentrierte sich das Interesse der Transplantationsforschung darauf, wie die immunologischen Abwehrreaktionen eines Organismus gegenüber Fremdgewebe vermindert werden können, um dessen funktionsgerechte Einheilung zu ermöglichen. Dabei beschritt man verschiedene Wege, das Problem der Gewebeunverträglichkeiten bei der Transplantationschirurgie zu lösen:

- 1) durch Versuche, das Immunsystem des Empfängers (z.B. mit Hilfe von Bestrahlung oder Behandlung mit Immunsuppressiva) dergestalt zu beeinflussen, daß eine Transplantatabstoßung unterbleibt.
- 2) durch Versuche, das Transplantat selbst zu modifizieren (z.B. mit Hilfe von Bestrahlung, Tiefrieren, Lyophilisieren oder chemischer Behandlung), um die Antigenizität dieser Transplantate zu vermindern.
- 3) durch Versuche, das Gewebe des endgültigen Empfängers mit Hilfe eines Transplantations-"Zwischenwirtes" vor der Operation in seiner Antigenizität zu reduzieren.

Von diesen drei Methoden wird die zweitgenannte, d.h. der Versuch der Verminderung von antigenen Eigenschaften des Transplantates für Transplantationen von Knochen und Bindegewebe allgemein angewandt.

Die Bestrahlung des Empfängers oder die Anwendung von Immunsuppressiva, wie sie bei Organtransplantaten herangezogen wird, kommen bei Knochen- und Bindegewebstransplantationen aus Risikogründen nicht in Betracht (39).

Der zunehmende Gebrauch von Transplantaten zur Deckung von Gewebsdefekten und zur Wiederherstellung der Funktionsfähigkeit bestimmter Systeme hat zur Einrichtung von Gewebebänken geführt. Zu diesem Zweck sind sehr unterschiedliche Methoden entwickelt worden, die einerseits die Vitalität des Transplantates mehr oder weniger erhalten und zudem eine Antigenizitätsminderung bewirken sollen (z.B. durch Tiefrieren oder Lyophilisieren oder Aufbewahrung in Plasma- oder Elektrolytlösung). Andererseits verwendet man Konservierungsmittel, die die Vitalität des allogenen Gewebes zerstören und bei verminderter Antigenizität eine problemlose Haltbarkeit ermöglichen. Beispielsweise stehen dafür Glutaraldehyd, Formalin, Alkohol, Merthiolat und Cialit zur Verfügung (12).

Für die Konservierung von homostatistischem Stützgewebe, z.B. für den HNO-Bereich, werden überwiegend die organischen Quecksilberverbindungen Merthiolat und Cialit verwendet. Merthiolat besitzt dabei gegenüber dem Cialit den Nachteil, daß es durch das Licht zersetzbar ist und sich auch nur langsamer auswaschen läßt (17). Wegen der problemloseren Handhabung hat sich das Cialit als Konservierungsmittel z.B. für Gehörknöchelchen, Knorpel- und Fasziengewebe durchgesetzt (15,13,17).

Nach jüngsten klinischen Berichten sind sowohl die Konzentration des Konservierungsmittels (die Cialitlösung wird in der Verdünnung 1 : 5000 als optimal angesehen), als auch eine ausreichend lange Wässerung des Transplantates vor dem operativen Gebrauch für die

Gewebeverträglichkeit von entscheidender Bedeutung (14). Für die weitgehende Freisetzung von Cislit aus Gehörknöchelchen und aus kleineren Faszienstücken genügen ca. 20 Minuten. Größere Knorpel- oder Knochenstücke sollten vor dem Eingriff mehrere Stunden in physiologischer Kochsalzlösung gewässert werden.

Tierexperimentelle Befunde zeigen, daß nach einer subkutanen Injektion von Cislit unterschiedlicher Konzentration eine lebhafte lokale entzündliche Bindegewebsreaktion abläuft. Dies entspricht in etwa den Verwachsungsreaktionen nach der Transplantation von cislitkonservierten Gehörknöchelchen, die erst nach dem Ausspülen des Transplantatgewebes in physiologischer Kochsalzlösung verschwanden (14).

Andere histologische Untersuchungen beziehen sich auf die Einheilungstendenz von alloenen, mit Cislit vorbehandelten Gehörknöchelchen nach der Transplantation auf das Meerschweinchen und auf den Menschen (38). Es zeigte sich, daß bei Mensch und Tier konservierte Gehörknöchelchen reizlos einheilen. Der Ersatz durch körpereigenes Knochengewebe ist beim Meerschweinchen nach acht Monaten nahezu abgeschlossen. Beim Menschen dagegen sind nach derselben Zeit noch Ansätze zur Knochenneubildung erkennbar (38).

Bei einer tierexperimentellen Überprüfung von cislitkonservierter Faszie fand man am Kaninchen nach der Transplantation von frischen, unkonservierten, alloenen Transplantaten im histologischen Bild deutliche entzündliche Reaktionen.

Im Vergleich dazu zeigte die histologische Untersuchung nach der Transplantation von allogener oder xenogener Faszie auf das Kaninchen nach der Cislitkonservierung eine gute Einheilungstendenz ohne wesentliche Entzündungsreaktion (18).

Allerdings kann man aus der guten Gewebeverträglichkeit von Cislit nicht auf die Funktionstüchtigkeit des Transplantates schließen.

Wie die Untersuchungen von STEINBACH (1971) zeigen, hat das tote allogene Transplantationsmaterial lediglich eine Brückenfunktion und wird vom Wirtsorganismus durch eigenes Gewebe ersetzt (38).

B Hauptteil

Allgemeines über bindegewebige Substanzen

Die chemische Analyse für Knochen erwachsener Menschen ergibt folgende Werte: Wasser 20%, Kollagen 25% der Trockensubstanz, übrige Proteine 1,25%, anorganische Stoffe 65 bis 70 %.

Im Laufe des Lebens wechseln jedoch die Werte dahingehend, daß mit zunehmendem Alter der Mineralgehalt und die Menge der organischen Substanzen steigt und der Wassergehalt sinkt (20).

Sämtliche Stützsubstanzen im Körper (Bindegewebe, Knorpel, Knochen) besitzen reichlich Interzellulärsubstanzen mit der amorphen Grundsubstanz und kollagenen, retikulären oder elastischen Fasern.

Die Hauptmasse der Bindegewebsfasern, nahezu $\frac{1}{3}$ der gesamten Proteinmenge des menschlichen Körpers, besteht aus Gerüstproteinen, Fasern kollagenen Charakters. Chemisch ist den Kollagenen, denen auch eine gewisse Antigenizität zugeschrieben wird, ein hoher Hydroxyprolin-, Prolin- und Glykokollgehalt zu eigen (40).

Das Kollagen wird von den Fibroblasten gebildet und als Prokollagen an die Interzellulärsubstanz abgegeben (42). Hauptsächlich besteht das Kollagen aus Monoaminsäuren, kann enzymatisch zerlegt werden und liefert beim Kochen Glutin.

Der Stoffwechsel des Kollagens ist sehr viel langsamer als der von anderen Körperproteinen, und er fällt mit zunehmendem Alter weiter ab (23).

I Die Transplantation bindegewebiger Substanzen

a) Die Transplantation von Knochen

Unter Transplantation versteht man ganz allgemein die Überpflanzung von Gewebe z.B. zur Deckung eines Gewebsdefektes (30).

Ein Knochentransplantat soll jedoch nicht nur zur Deckung eines Gewebsdefektes dienen, sondern aus eigener Kraft die Osteogenese im Transplantat oder Wirtslager zur Osteogenese anregen, da das Transplantat letztlich in den Empfängerorganismus eingebaut werden soll.

Diskussionsgegenstand ist seit langem die Frage, ob das Transplantat oder ob Teile des Transplantates überleben und selbst Knochen bilden oder ob sich das Transplantat passiv verhält und dem einsprossenden Lagerbindegewebe als Leitgerüst dient oder das Einwachsen von Bindegewebe zu verhindern hat (35, 34).

Durch die Entnahme aus seinem Lager wird das knöcherne Transplantat vollständig seiner vaskulären Versorgung beraubt. Aus frischen Schliffen an Frakturzonen konnte nachgewiesen werden, daß die Osteozyten in der Wandung der Havers'schen Kanäle noch 1 bis 2 Wochen überleben können (33). Das Überleben seiner zellulären Elemente ist abhängig vom Lager und der von ihm ausgehenden Diffusion und Revaskularisation, die wiederum in engem Zusammenhang mit der Form beziehungsweise Struktur des Transplantates steht, das umso leichter vom Lagergewebe erschlossen wird, je weitmaschiger sein

Grundgerüst ist (29, 1).

Von entscheidender Bedeutung ist die Tatsache, daß die Vaskularisation von Transplantaten relativ rasch erfolgt (um den siebten Tag) und hierbei die Ernährung der Transplantatzellen gewährleistet ist. In den ersten vier bis sechs Tagen wird ein Transplantat nur mit Hilfe der Diffusion ernährt. Die Überlebensfähigkeit der allogenen entigenen Knochenzellen auf Zeit ist erwiesen, sofern sie in ein geeignetes Milieu oder in ein vaskularisationsfähiges Lager verpflanz werden (24).

Die osteogenetische Leistungsfähigkeit des Periostes war von jeher Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen.

Während das Periost des wachsenden Organismus reichlich Präosteoblasten und Osteoblasten in der Kambiumschicht enthält, bedarf das Periost beim erwachsenen Individuum zur Aufnahme seiner spezifischen Tätigkeit des von der absterbenden, ihm organisch verbundenen Knochenhartsubstanz ausgehenden Anreizes (3). Dadurch lagern die sich vermehrenden osteoblastischen Zellen der Kambiumschicht neuen Knochen an das transplantierte nekrotische Gewebe an. Den Beweis liefern periostfreie Kortikalisspäne durch ihre Transplantation. Mit Entfernung des Periostes entfällt die rasche und kräftige subperiostale Knochenneubildung, so daß der Ab- und Umbau des abgestorbenen Transplantatknochens erheblich verzögert wird. Normalerweise beginnt im periostbedeckten, autogenen Span die Knochenneubildung um den vierten Tag. An den

periostlosen Spänen setzt die Knochenneubildung erst später und zuerst an der Markseite und den Enden des Spanes ein, dort wo die geöffneten Havers'schen Kanäle mit den Osteoblasten Anschluß an die Gefäßversorgung gefunden haben. Die Knochenneubildungsfähigkeit des Periostes bleibt aber von der Vaskularisierung abhängig (11).

Die absterbende Knochengrundsubstanz übt einen spezifischen Reiz aus, der nach der Osteoblasten-Theorie auf unspezifische osteoblastische Zellen und nach der Induktions-Theorie auf die pluripotenten Mesenchymzellen des Lagergewebes wirkt. Werden aus einem spongiösen Knochen die anhängenden Weichgewebe ausgewaschen, ohne die Grundsubstanz chemisch zu verändern, so sinkt die osteogenetische Potenz erheblich ab und bleibt nur zu einem geringen Teil erhalten. Neuen Knochen bildet auch rotes Mark eines spongiösen Knochens, das für sich allein transplantiert wird. Seine osteogenetische Potenz ist aber vergleichsweise zum unveränderten autogenen Transplantat gering. Wird nun die zellfreie Knochengrundsubstanz mit dem roten Mark imprägniert, so steigt die osteogenetische Potenz erheblich an. Sie erreicht somit Werte, die dem unveränderten autogenen Transplantat gleichkommen. Dabei ist offensichtlich gleichgültig, ob autogene oder allogene Knochengrundsubstanz verwendet wurde (8,9). Die induktiven Substanzen treffen auf spezifische osteoblastische Zellen im Mark, wenngleich auch reichlich im Mark vorhandene Retikulumzellen oder Endothelzellen sich zu Osteoblasten umwandeln dürften (34).

b) Die Transplantation von allogenem Bindegewebe
(Trommelfell)

Im Gegensatz zu den parenchymatösen Organen können allogen transplantierte Stützgewebe in vitalem oder devitalem Zustand unter gewissen Voraussetzungen funktionstüchtig in einen Organismus einheilen. Autogene und allogene Transplantate bei der Abdeckung von Trommelfellperforationen, wie Mundschleimhaut (16), Dura, Faszie, Perikard (41), Peritoneum (6) erfahren einen Umbau und Ersatz durch mehr oder weniger differenziertes Bindegewebe, wobei die Transplantate unter günstigen Bedingungen während des Substitutionsvorganges ihre mechanischen Aufgaben ohne Unterbrechung erfüllen können. Hierbei stellen die Transplantate eine Leitstruktur dar. Die funktionstüchtige Einheilung dieser Transplantate ist dabei nicht an die Vitalität der Gewebszellen gebunden. Die Beseitigung individuelfremder Vorbehandlung und Konservierung kann unter bestimmten Bedingungen das praktische Ergebnis der Übertragung infolge einer Verminderung der immunologisch entzündlichen Reaktion sogar begünstigen. Unterschiede in der stofflichen Zusammensetzung und Struktur wie auch die Art und Dauer der Konservierung, bestimmen die biologische Wertigkeit der Transplantate, deren funktionelles Schicksal darüber hinaus in hohem Maße von den mechanischen Einflüssen am Einpflanzungsort abhängt (35,36,25).

c) Problemstellung

Bei Transplantationen von nicht denaturierten Knochen- und Bindegewebsstrukturen des Schalleitungsapparates allogener Herkunft wird die Histokompatibilität meist nicht beachtet. Nach den systematischen Untersuchungen von CHALMERS (1964) (10) über die immunogene Wirkung von allogenen Knochentransplantaten, ist bei Transplantationen des Schalleitungsapparates mit einer Sensibilisierung im Sinne einer erhöhten Immunität vom verzögerten Typ zu rechnen. Dabei werden durch das allogene Transplantat Antikörper gegen HL-A Antigene (Human Leucocyte- Antigen) induziert.

Aus biochemischen Untersuchungen weiß man, daß durch Behandlung von Transplantaten mit Cislit beispielsweise der Gehalt an löslichen Proteinen der Gehörknöchelchen und der Trommelfelle signifikant absinkt (19). Dadurch ist möglicherweise die Antigenerkennung und - Verarbeitung weiter verzögert, so daß eine Sensibilisierung erschwert ist (37,22,38).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Immunisierung von Kaninchen mit hochmolekularem Material aus cislitkonservierten menschlichen Gehörknöchelchen und Trommelfellen, Antiseren zu gewinnen und letztlich einen Vergleich zu nichtkonserviertem Material anzustellen.

Zu dem Zweck wählten wir ein xenogenes Modell (Mensch - Kaninchen), weil sich in diesem System Immunreaktionen leichter serologisch darstellen lassen.

d) Die Transplantation von menschlichen Gehörknöchelchen auf das Kaninchen

Die Einheilungsvorgänge am xenogenen Transplantat verlaufen völlig anders als beim allogenen. Auf eine äußerst starke Abwehrreaktion gegen das artfremde Gewebe weisen massive Rundzellinfiltrate hin. Auch die Tiefkühlung und Gielitkonservierung können die starke zelluläre Reaktion nicht wesentlich herabsetzen. Da die osteoinduktive Potenz der abgebauten Knochengrundsubstanz nur innerhalb einer Spezies wirksam ist, bleibt eine osteogenetische Phase im Transplantat aus (34,26).

Nach der individualunterschiedlichen Transplantation erfolgt gesetzmäßig eine Abstoßung des Transplantates. Vor allem die für die Osteogenese so wichtigen osteoblastischen Transplantatzellen sterben ab, wenn Knochen im allogenen System transplantiert wird (34,32).

e) Die Transplantation von menschlichen Trommelfellen auf das Kaninchen

Vierundzwanzig Stunden post mortem wurden menschlichen Leichen Trommelfelltransplantate unter keimfreien Verhältnissen entnommen. Die Transplantate wurden bis zur Übertragung in Gialitlösung konserviert.

Da das xenogene Trommelfell- im Gegensatz zum xenogenen Gehörknöchelchentransplantat eine lockere Faserstruktur besitzt, wird es rasch nach drei bis vier Monaten ab- und bindegewebig umgebaut. Auch der Einbau ist nach dieser Zeit weitgehend abgeschlossen, so daß ein anscheinend funktionstüchtiges Ersatztrommelfell entsteht. Diese Transplantate können im Kaninchen humorale Antikörper entwickeln, wenn Material aus löslichen Proteinen von menschlichen Trommelfellen den Kaninchen injiziert wird.

Man unterscheidet hier zwei dem HL-A System (HL-A = Human Leucocyte-Antigen) angehörende Antigentypen, die LD- (LD = Lymphocyte Detectable) und die SD- (SD = Serologic Detectable) Antigene. LD - Antigene rufen Transplantationsimmunität, SD - Antigene einen Anstieg humoraler Antikörper hervor (5).

Nach einer xenogenen Transplantation steigen die humoralen Antikörper regelmäßig an (2,8,9). Dieser humorale Antikörpernachweis gelang sowohl aus xenogenem Knochen (GKE), als auch mit Homogenaten aus menschlichen Trommelfellen, wobei die immunogenen Faktoren überwiegend mitübertragene Blutbestandteile des Menschen in den Transplantaten sein dürften.

f) Biochemische Untersuchungen der menschlichen
Gehörknöchelchen und Trommelfelle

Mit Hilfe biochemischer Analysen wurden menschliche Gehörknöchelchen und Trommelfelle in Bezug auf ihre löslichen Proteine und bezüglich des Einflusses der Cialitlösung auf die Proteolyse untersucht. Dabei zeigte sich der typische kollagenartige Charakter der Gehörknöchelchen und der Trommelfelle mit dem hohen Prolin- und Glycinegehalt (27).

Dabei beläuft sich der Gehalt an Gesamtproteinen auf Prozent in Trockensubstanz bezogen auf 52,8% und der der Gehörknöchelchen auf 11,8%. Der Prozentsatz der unlöslichen Proteine beträgt zwischen 91,4% und 96,8% und der der löslichen 3,2 bis 8,6%. Im Vergleich dazu findet man bei der Hydrolyse nichtkonservierter, frischer Gehörknöchelchen einen Prozentsatz von 81,1% bis 86 % (28).

Präpariert man von den Gehörknöchelchen das Periost unter dem Mikroskop ab und untersucht sie cialitkonserviert und frisch periostlos und das Periost gesondert, so ist festzustellen, daß der Prozentsatz der löslichen Proteine am periostlosen Gehörknöchelchen mit Werten um 2% durch die Cialitkonservierung kaum eine Änderung erfährt. Signifikant ist die Feststellung, daß der Anteil der Proteine im Periost von 19% im frischen auf 1% beim cialitkonservierten absinkt.

Daraus wird ersichtlich, daß sich der denaturierende Einfluß des Cialit ausschließlich im Periost niederschlägt. Wahrscheinlich wird durch diese weitgehende Aufhebung der Proteolyse eine antigenvermindernde

wirkung der Transplantate, sicher aber eine Verzögerung der Antigenfreisetzung bewirkt (27). während nach der Cialitkonservierung der menschlichen Trommelfelle der Prozentsatz der unlöslichen Proteine auf ca. 95% ansteigt und der der löslichen Proteine auf ca. 5% absinkt, entfallen von den 52,8% Gesamtproteinen im menschlichen Trommelfell beim nichtkonservierten auf die unlöslichen Proteine ca. 80% und auf die löslichen ca. 20%. Nach SEIFFERT (1970) (36) wirkt das frische Transplantat am stärksten antigen, dann das tiefgeköhlte und lyophilisierte, gefolgt vom cialitkonservierten Transplantat.

C Eigene experimentelle Untersuchungen

Um die Antigenizität der menschlichen Gehörknöchelchen- und Trommelfelltransplantate nach Cialitkonservierung zu testen, wurden Kaninchen im xenogenen System mit Homogenaten dieser Substanzen immunisiert und serologische Untersuchungen zum Nachweis der Antikörperbildung vorgenommen.

Zu diesem Zweck wurden je drei Kaninchen mit Homogenaten aus cialitkonserviertem GKE bzw. Trfl immunisiert.

Nach Erreichen ausreichender Antikörpertiter wurden die Tiere in Narkose entblutet.

Vergleichsweise wurden je drei Kaninchen mit frischem, nichtkonserviertem GKE und Trfl immunisiert (31).

Methode:

Verarbeitet wurden ca. 170 menschliche Felsenbeine, die der Leiche innerhalb von vierundzwanzig Stunden nach dem Tode entnommen wurden. Nachdem die Trommelfelle desepithelisiert und mit dem Anulus fibrosus aus dem Hammergriff herausgelöst waren, wurden unter keimarmen Kautelen die Gehörknöchelchen und Trommelfelle unter dem Lichtmikroskop aus der Paukenhöhle entfernt und bei minus 17°C eingefroren, bis die erforderliche Menge von 170 Felsenbeinen gesammelt war. Ähnlich wurden die Ambosse und Hammer behandelt. Die Gehörknöchelchen und Trommelfelle wurden für zweiundsiebzig Stunden bei 4°C in Cialitlösung konserviert.

Nach Homogenisierung mit dem Ultraturax in gepufferter isotoner Kochsalzlösung (pH = 7,8), wurde das Material zentrifugiert und sämtliche löslichen Partikel (Überstand) gegen Leitungswasser dialysiert. Dabei wurden die kleineren Peptide und Salze ausgeschwemmt. Auf diese Weise blieb das lösliche hochmolekulare Material mit einem Molekulargewicht über 10.000 erhalten.

Nach erneuter Dialyse gegen aqua destillata (sämtliche Verunreinigungen durch Salze werden beseitigt) wurde das Material lyophilisiert, das Gewicht bestimmt und die einzelnen Injektionsmengen festgelegt.

Gewinnung von cislitkonserviertem GKE

GKE frisch 2,83g

|

Lyophilisierung

|

Homogenisierung

|

Cislitkonservierung (Methode s.o.)

|

Dialyse über zwei Tage

|

Lyophilisierung (ergibt 736 mg hochmolekulares Material)

Gewinnung von cislitkonserviertem Trfl

Trfl frisch 2,17g

|

Lyophilisierung

|

Homogenisierung

|

Cislitkonservierung (Methode s.o.)

|

Dialyse über zwei Tage

|

Lyophilisierung (ergibt 534 mg hochmolekulares Material)

Verarbeitung der cialitkonservierten Gehörknöchelchen
Gewinnung von hochmolekularem Material

3 x 175 menschliche Gehörknöchelchen, Gesamtgewicht 9,584g, wurden cialitkonserviert, lyophilisiert und nach obiger Methode wurde 64,3 mg lösliches Material gewonnen.

Jeweils 50 mg wurden in 12,5 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 0,5 ml Freundschem Adjuvans versetzt. Das gelöste Material wurde auf 20 Einzelinjektionen verteilt. Es resultierte daraus also eine Einzeldosis von 2,5 mg. Eine Einzeldosis war nun in 0,625 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung und 0,025 ml Freundschem Adjuvans gelöst.

Zur Immunisierung von drei Kaninchen wurden 3 x 50 mg Material verarbeitet. Der Rest des Materials wurde für spätere serologische Untersuchungen aufbewahrt und bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren (Methode nach REICHARDT 1976) (31).

Verarbeitung der cialitkonservierten Trommelfelle
Gewinnung von hochmolekularem Material

Aus 170 menschlichen Felsenbeinen wurden 122 Trommelfelle mit einem Gesamtgewicht von 2,392 g entnommen und nach der oben beschriebenen Methode (Cialitkonservierung, Lyophilisierung) 685,7 mg lösliches Material gewonnen.

Wiederum wurden jeweils 50 mg in 12,5 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 0,5 ml Freundschem Adjuvans behandelt. Das gelöste Material wurde gleichfalls auf 20 Einzelinjektionen verteilt, so daß eine Einzeldosis von 2,5 mg daraus resultierte.

2,5 mg Antigen als Einzeldosis waren in 0,625 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung und 0,025 ml Freundschem Adjuvans gelöst.

3 x 50 mg Material wurden zur Immunisierung von drei Kaninchen verarbeitet. Der Rest des Materials wurde eingefroren und für spätere serologische Untersuchungen aufbewahrt.

Ablauf des Experimentes der mit Cislit konservierten
Gehörknöchelchen und Trommelfelle
(Schema nach REICHARDT)

Trommelfell- und Gehörknöchelchenprotein

↓
Cislitkonservierung (s.o.)

↓
Kaninchen s.c.

↓
Kaninchen s.c. und i.m.

↓
Serum

↓
Nachweis der Antigenizität im Ouchterlony - Test

Cisalitkonservierte Homogenate aus Trommelfellen und Gehörknöchelchen vom Menschen wurden den Kaninchen an folgenden Injektionsstellen verabreicht:



● = Injektionsstellen

Injektionsschema

Xenogene, cisalitkonservierte Trommelfell- und Gehörknöchelchenhomogenate wurden den Kaninchen an zwanzig verschiedenen Stellen, in Lymphknotennähe, subkutan, intramuskulär, (siehe Zeichnung) injiziert. Nach sechs Wochen Reimmunisierung. Vierzehn Tage später Entblutung und serologische Untersuchung.

Technik der Immunisierung

Es wurden je drei Kaninchen mit Homogenat aus cisalitikonservierten GKE und Trfl immunisiert. Die zwanzig Einzelinjektionen pro Kaninchen wurden, nachdem zuvor die entsprechenden Hautstellen (siehe Zeichnung) rasiert worden waren, wie folgt subkutan verabreicht:

Genick :	5 Injektionen
Axilla :	5 Injektionen
Inguinalgegend :	5 Injektionen
Zehenzwischenräume :	5 Injektionen

Dann erfolgte in der Immunisierung eine Pause von 30 Tagen.

Anschließend wurde die Reimmunisierung subkutan nach obigem Schema und beschriebener Methode mit cisalitikonservierten Gehörknöchelchen und Trommelfellen vorgenommen. Bei der Reimmunisierung wurden 0,2 ml Volumen subkutan injiziert. Außerdem erfolgte eine zusätzliche Injektion von jeweils 1,5 ml des wie beschrieben zubereiteten Materials intramuskulär in den Muskelus gastrocnemius und in den Muskelus triceps.

Um auszuschließen, daß die Versuchstiere allein schon gegen das Freundsche Adjuvans humorale Antikörper bilden, wurden zwei Tieren zur Kontrolle ausschließlich pro Injektion eine Emulsion aus 0,05 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung nach obigem Schema subkutan injiziert.

Zehn Tage nach der letzten Injektion wurden die Kaninchen in Nembutal - Narkose durch Punktion der

Aorta abdominalis entblutet und die gewonnenen Seren bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

Um histologische Rückschlüsse auf spezifische Immunreaktionen zu erhalten, wurden den Versuchstieren die regionalen Lymphdrüsen und Gewebe aus den Injektionsstellen entnommen.

Ergebnisse

Die Prüfung der gewonnenen Kaninchen - Antiseren auf eine Antigen - Antikörperreaktion gegen die cialitkonservierten Gehörknöchelchenhomogenate ergab keine Reaktion, wohl aber gegen Trommelfellhomogenate.

Eine Antigen - Antikörperreaktion zwischen gelöstem GKE - Homogenat vom Menschen und Kaninchen - Antiserum gegen c i a l i t k o n s e r v i e r t e humane G e h ö r k n ö c h e l c h e n w e r n i c h t nachzuweisen.

Der Test der Kaninchen - Antiseren gegen Humanserum zeigte bei allen HS - Konzentrationen keine Reaktion.

Die immunologische Prüfung mit menschlichem Leberextrakt zeigte ebenfalls keine positive Reaktion.

Eine Antigen - Antikörperreaktion zwischen gelöstem humanem Trfl - Homogenat und Kaninchen - Antiserum gegen c i a l i t k o n s e r v i e r t e humane T r o m m e l f e l l e w a r p o s i t i v .

Der Test der Kaninchen - Antiseren gegen Humanserum zeigte bei bestimmten HS - Konzentrationen eine positive Reaktion.

Die immunologische Prüfung mit menschlichem Leberextrakt war positiv.

Die Prüfung der gewonnenen Antiseren auf eine Antigen - Antikörperreaktion gegen nicht - konservierte GKE- und Trfl - Homogenate ergab (31) :

Eine Antigen - Antikörperreaktion zwischen nicht konserviertem GKE- und Anti - GKE - Serum in der Doppeldiffusion im Agargel (Ouchterlony - Methode) war nachweisbar.

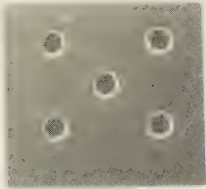
Ebenso fand man bei den Anti - Trfl - Antiseren vom Kaninchen eine deutliche Reaktion gegen gelöstes humanes Trommelfell - Homogenat in der Doppeldiffusion im Agargel.

Der Test mit Humenserum in verschiedenen Konzentrationen bot eine deutliche Reaktion in abgestufter Intensität bei allen Humenserumkonzentrationen. Die immunologische Prüfung mit menschlichem Leberextrakt zeigte ebenfalls eine deutliche Reaktion, außer bei 0,08 mg/ml.

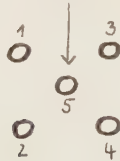
Wir prüften im Ouchterlony - Test (Doppeldiffusion im Agargel) die Reaktion zwischen den Kaninchen - Antiseren und gelöstem Homogenat aus humanem GKE bzw. Trfl als mögliches Antigen. Dabei benutzten wir verschiedene Konzentrationen (10; 2; 0,4; 0,08 mg/ml) von löslichem Antigen aus menschlichen Mittelohrtransplantaten. Außerdem prüften wir auf Reaktionen der Antiseren vom Kaninchen gegen Humenserum und verwendeten dabei Konzentrationen von 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32 Humenserum. Zudem testeten wir die Antiseren auf Reaktionen gegen Leberextrakt und prüften die Antiseren auf Antikörper gegen menschliches Gewebe. Wir setzten Konzentrationen von 10; 2; 0,4; 0,08 mg/ml Stammlösung ein.

Testung der Antiseren vom Kaninchen gegen cislit-
konservierte humane Mittelohrtransplantate

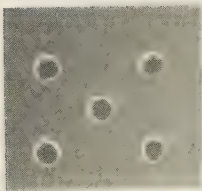
I A. GKE



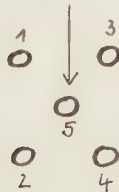
- 1 - 10 mg/ml
 - 2 - 2 mg/ml
 - 3 - 0,4 mg/ml
 - 4 - 0,08 mg/ml
 - 5 - Anti - GKE - Antiserum
- cislitkonserviert



I B. Leberextrakt

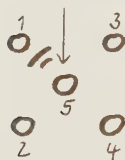


- 1 - 10 mg/ml
 - 2 - 2 mg/ml
 - 3 - 0,4 mg/ml
 - 4 - 0,08 mg/ml
 - 5 - Anti - GKE - Antiserum
- cislitkonserviert



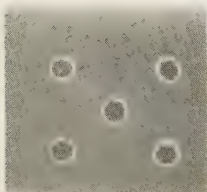
II A. Trfl

- | | | |
|--|---|---------------------------|
| 1 - 10 mg/ml | } | Trfl - Anti-
genlösung |
| 2 - 2 mg/ml | | |
| 3 - 0,4 mg/ml | | |
| 4 - 0,08 mg/ml | | |
| 5 - Anti - Trfl - Antiserum
cielitkonserviert | | |



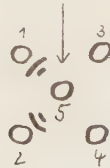
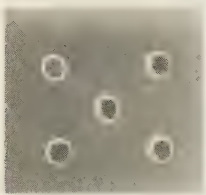
II B. Humenserum

- | | | |
|--|---|----|
| 1 - 1 : 4 | } | HS |
| 2 - 1 : 8 | | |
| 3 - 1 : 16 | | |
| 4 - 1 : 32 | | |
| 5 - Anti - Trfl - Antiserum
cielitkonserviert | | |



II C. Leberextrakt

- 1 - 10 mg/ml
 2 - 2 mg/ml
 3 - 0,4 mg/ml
 4 - 0,08 mg/ml
 5 - Anti - Trfl - Antiserum
 cialitkonserviert
- Leberextrakt



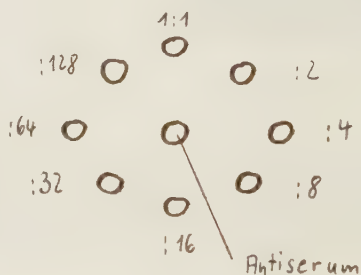
Nachweis der antigenen Wirkung von cialitkonservierten menschlichen Trommelfellen und Gehörknöchelchen im xenogenen System (Mensch - Kaninchen) im Ouchterlony - Test

Nicht dialysierbares lösliches hochmolekulares Material aus einem Homogenat von cialitkonservierten Trommelfellen und Gehörknöchelchen ergeben im Ouchterlony - Test folgende Resultate:

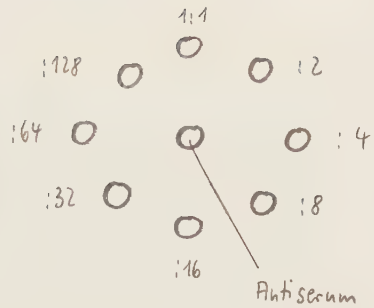
<u>Antigen</u>	<u>Anti-GKE-Antiserum</u>	<u>Anti-Trfl-Antiserum</u>	<u>NKS</u>
HS	keine Reaktion	Präzip. bis 1 : 8	-
Leber	keine Reaktion	Präzip. bei 10 mg/ml und bei 2 mg/ml	-
GKE	keine Reaktion	-	keine Reaktion
Trfl	-	Präzip. bei 10 mg/ml	keine Reaktion

Im Vergleich zu den vorhergehenden Untersuchungen zeigten die Antiseren gegen frische, nicht-konservierte GKE bzw. Trfl deutliche Präzipitate in der Doppeldiffusion im Agargel (31).

Diese dokumentiert sich in folgenden Bildern (übernommen von REICHARDT).



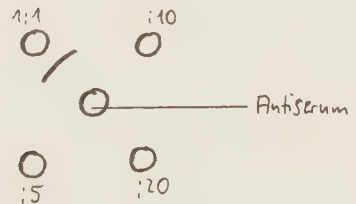
A ₁		A ₂	
<u>Nr</u>	<u>Antiserum</u>	<u>Antigen</u>	<u>Reaktion im Ouchterlony</u>
A ₁	GKE	HS	3 Präzip. Linien 1 : 64 1 Präzip. Linie 1 : 256
A ₂	Trfl	HS	2 Präzip. Linien 1 : 16 2 Präzip. Linien 1 : 256



B₁

B₂

<u>Nr</u>	<u>Antiserum</u>	<u>Antigen</u>	<u>Reaktion im Ouchterlony</u>
B ₁	GKE	Leber n. inskt.	4 Präzip. Linien 1 : 16 3 Präzip. Linien 1 : 128
B ₂	Trfl	Leber n. inskt.	3 Präzip. Linien 1 : 8 1 Präzip. Linie 1 : 256



C₁

C₂

<u>Nr</u>	<u>Antiserum</u>	<u>Antigen</u>	<u>Reaktion im Ouchterlony</u>
C ₁	GKE	GKE	Präzip. Linie bei 1 : 1
C ₂	Trfl	Trfl	Präzip. Linie bei 1 : 1

Der Präzipitationstest, der aus c i a l i t k o n s e r v i e r t e n G K E- und T r f l l- H o m o g e n a t e n gewonnenen Antiseren zeigte folgende Ergebnisse:

Bei Verwendung von gelöstem Antigen aus humanem GKE, Humenserum sowie Leberextrakt vom Menschen beobachten wir keine Reaktion beim Antiserum gegen cialitkonserviertes Gehörknöchelchenhomogenat, während beim Antiserum gegen cialitkonserviertes Trommelfelleextrakt Präzipitationslinien mit den Titern 8 und 2 auftraten. Dieser Befund deutet auf eine Restaktivität des Antiserums gegen cialitkonserviertes Trommelfelleextrakt gegen menschliches Gewebe hin, die im Anti - GKE - Antiserum fehlt.

Die Restaktivität im Antiserum gegen das mit Cialit konservierte Trommelfellhomogenat könnte einen Antikörpertiter gegen menschliche Trommelfelle darstellen. Humane Trommelfelle besitzen einen doppelt so hohen Prozentsatz an löslichen Proteinen wie Gehörknöchelchen.

Dagegen ist aus anderen Untersuchungen bekannt (31), daß beim Test der aus nichtkonservierten GKE - und Trfl - Homogenaten gewonnenen Antiseren auf Reaktionen mit frischen menschlichen Gehörknöchelchen, Humenserum und Leberextrakt deutliche Präzipitate auftraten.

II Histologische Ergebnisse

Wie bereits erwähnt, wurden den Versuchstieren nach deren Tötung aus den regionalen Lymphknoten und aus der Haut der jeweiligen Injektionsstellen Proben entnommen, um histologisch zelluläre Immunreaktionen nachzuweisen.

Die Kaninchen hatten innerhalb von vierzig Tagen zwei Fremdeiweißinjektionen (cislitkonserviertes GKE und Trfl vom Menschen) pro Injektionsstelle erhalten. Im histologischen Bild waren Zeichen einer chronischen Entzündung mit Rundzelleninfiltraten im Sinne einer möglichen Immunreaktion zu erwarten.

Bei der histologischen Untersuchung fand sich eine geringe plasmazelluläre Reaktion im Bereich der Injektionsstellen.

Auffallend waren die relativ geringen Entzündungszeichen.

Die begleitende granulomatöse Proliferation von Epitheloid- und Riesenzellen ist als Reaktion gegen das zusätzlich zu den Trommelfell- und Gehörknöchelchen-homogenaten injizierte komplette Freundschs Adjuvans anzusehen.

Im Vergleich dazu fand man nach der Immunisierung mit frischem, nichtkonserviertem Material (31) im histologischen Bild eine starke plasmazelluläre Reaktion, die auf eine mögliche immunologische Abwehrreaktion hinweist und auch den hohen Antikörpertitern gegen HS und Lebergewebe vom Menschen entspricht, die bei den serologischen Untersuchungen nachgewiesen wurden.

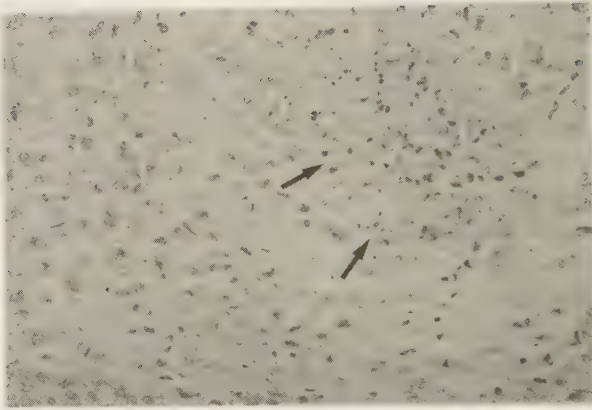


Abb.1 : Histologischer Schnitt durch die Subkutis eines Kaninchens, vierzig Tage nach zweimaliger Injektion eines Homogenates aus cislitkonservierten humanen Gehörknöchelchen mit komplettem Freundschens Adjuvans. Es zeigt sich eine geringe plasmazelluläre, entzündliche Reaktion mit Granulombildung im Sinne einer Überempfindlichkeit vom Spättyp (Pfeil). Die Epitheloid- und Riesenzellen sind als eine Reaktion auf das mitinjizierte komplette Freundsches Adjuvans anzusehen.
(Vergrößerung 40 - fach)

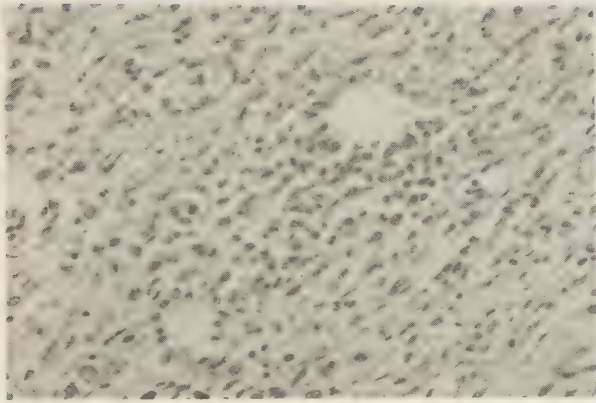


Abb. 2 : histologischer Schnitt durch die Subkutis eines Kaninchens vierzig Tage nach zweimaliger Injektion eines Homogenates aus cis-litkonservierten menschlichen Trommelfellen mit Freund'schem Adjuvans.

Es zeigt sich eine entzündliche granulocytäre und histiozytäre Reaktion mit einzelnen Rundzellen entsprechend einer Überempfindlichkeit vom Spättyp (Vergrößerung 40-fach).

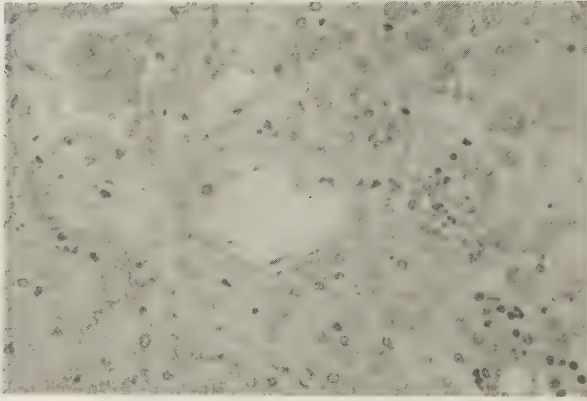


Abb. 3 : Histologischer Schnitt durch die Subkutis eines Kaninchens vierzig Tage nach zweimaliger Injektion von frischem nichtkonservierten Ossikula - Homogenat und komplettem Freundschens Adjuvans (31).

Es zeigt sich eine plasmazelluläre und histiozytäre exsudative entzündliche Reaktion mit Übergang in eine granulierende Entzündung entsprechend einer Überempfindlichkeit vom Spättyp, die aber im Vergleich zu dem cialitkonservierten Ossikula - Homogenat deutlich stärker ausfällt.

Epitheloid- und Riesenzellen bilden eine Reaktion auf das mitinjizierte komplette Freundsches Adjuvans.

(Vergrößerung 40 - fach)

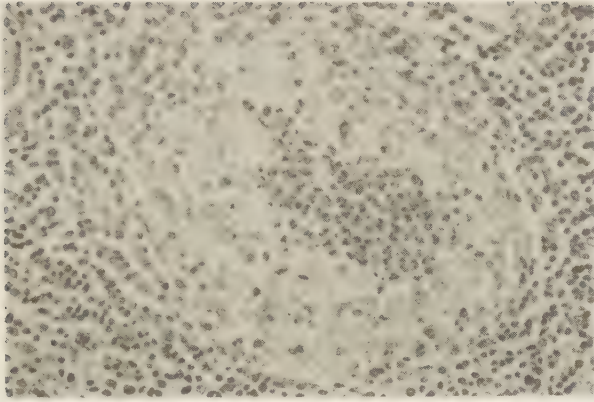


Abb. 4 : Histologischer Schnitt durch die Subkutis eines Kaninchens vierzig Tage nach zweimaliger Injektion von frischem nichtkonserviertem Trommelfell - Homogenat und komplettem Freundschens Adjuvans (31).

Auch hier findet sich eine granulozytäre, plasmazelluläre und histiozytäre exsudative Reaktion entsprechend einer Überempfindlichkeit vom Spättyp. Wiederum erkennt man eine deutlich stärkere Entzündungsreaktion im Vergleich zu islettkonserviertem Trommelfellhomogenat.

Deutlich erscheint die granulierende Entzündung mit frischen Infiltraten im Zentrum des Bildes.

(Vergrößerung 40 - fach)

SchlussTeil

1 Zusammenfassung der experimentellen Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es, die Antigenizität von Gehörknöchelchen- und Trommelfellextrakten vom Menschen im xenogenen System zu untersuchen und eine mögliche Minderung der Antigenizität durch die Konservierung in Cialitlösung nachzuweisen. Diese Versuche wurden deshalb im xenogenen System vorgenommen, da eine eventuell schwache antigene Wirkung dieser Substanzen in diesem System leichter nachzuweisen ist.

Daher wurden Kaninchen mit Homogenaten aus cialit-konservierten Gehörknöchelchen- und Trommelfellextrakten an mehreren, für eine mögliche Immunantwort besonders günstigen Injektionsstellen immunisiert.

Bei der serologischen Auswertung der Antiseren zeigten die Vorteste mit Antiseren gegen frische, nicht cialitkonservierte menschliche Mittelohrtransplantate hohe Titer gegen Humanserum und Lebergewebe vom Menschen (31).

Bei diesen Versuchen konnten allerdings nach Absorption der Antiseren mit Humanserum und lyophilisierter menschlicher Leber keine präzipitierenden Antikörper mehr gegen die genannten Antigene festgestellt werden. Daraus wird gefolgert, daß Antikörper gegen Homogenate aus unkonservierten menschlichen Gehörknöchelchen bzw. Trommelfellen in den Antiseren mit antigenen Determinanten des Humanserums und der Humanleber kreuzreagieren.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit unkonservierten Mittelohrtransplantaten ließen sich bei den Experimenten mit cialitkonservierten xenogenen Transplantaten in den Kaninchen - Antiseren gegen menschliche Gehörknöchelchen keine präzipitierenden Antikörper nachweisen. Die Antikörperbildung gegen lösliches Material aus menschlichen Trommelfellen war gering.

II Schlußfolgerung

Eine humorale Immunantwort auf frische nicht cialitkonservierte menschliche Mittelohrtransplantate konnte im Tierversuch mit Hilfe der Doppeldiffusion im Agargel (Ouchterlony - Test) und der Hämagglutinationsmethode nachgewiesen werden (31).

Im Gegensatz zu jenen Resultaten fand sich jedoch eine deutliche Verminderung der Antigenizität xenogener knöcherner und bindegewebiger Transplantate durch den Einfluß des Konservierungsmittels Cialit.

Nach der Verwendung von Homogenaten aus frischen, unkonservierten menschlichen Gehörknöchelchen und Trommelfellen ist eine deutliche Antikörperbildung gegen Erythrozyten, Humanserum und Gewebe vom Menschen im xenogenen System zu erwarten, da jede Substanz für sich stark antigen und immunogen ist (31).

Dagegen bleibt die Antikörperbildung im Kaninchen-serum nach Konservierung der menschlichen Mittelohrtransplantate mit Cialit deutlich zurück. Eine solche ließ sich nur nach Applikation von hochmolekularem Material aus cialitkonservierten Trommelfellen nachweisen. Ob diese Substanzen auch im allogenen System antigen wirken, hängt von der Histokompatibilität ab und wird vom Grad der Vorsensibilisierung des Empfängers bestimmt.

Aus diesen Untersuchungen läßt sich schließen, daß cialitkonservierte Transplantate den frischen, nicht konservierten Gewebeanteilen überlegen sind, da sie auf Grund ihrer verminderten Antigenizität reizloser und damit adhäsionsärmer einheilen (26).

Literaturverzeichnis

- (1) L.O. Abott The evaluation of cortical and cancellous as grafting material. J. Bone Jt. Surg. 1 29 (1947) 381
- (2) H. Allgöwer
 F.J. Blocker
 B. Engley Some immunological aspects of auto - and homografts in rabbits, tested by in vivo and in vitro techniques. Plast. Reconstr. Surg. 9 (1952) 1
- (3) G. Axhausen Histologische Untersuchungen über Knochentransplantationen am Menschen. Dtsch. Z. Chir. 91 (1908) 388, Zit. n. W. Axhausen (1950)
- (4) F.H. Bach Genetics of Transplantation : The Major Histocompatibility Complex. Ann. Rev. Genet. 1976 10 : 319 - 39
- (5) F.H. Bach The Major Histocompatibility Complex. Genetics and Biology. New England Journal of Medicine July (1976)
- (6) D.A. Birch Preliminary communication : Myringoplasty performed with a peritoneum homograft. J. Laryng. (London) 75 (1961) 922

- (7) W. Brendel
Transplantation und Immunologie. Arch. klin. exp. Ohr.- Nas.- und Kehlk. Heilkunde 196, 39 - 56 (1970)
- (8) R.G. Burwell
Studies in the Transplantation of Bone. J. Bone Jt. Surg. B 45 (1963) 386
- (9) R.G. Burwell
Studies in the Transplantation of Bone. J. Bone Jt. Surg. B 46 (1964) 110
- (10) J. Chalmers
Transplantation immunity in bone homografting. J. Bone Jt. Surg. B 41 (1959) 160
- (11) J. Choen
P. Lacroix
Bone and cartilage formation by periosteum. Issay of experimental autogenous grafts. J. Bone Jt. Surg. A 37 (1955) 717
- (12) E. Eitschberger
K. Waller
W. Richter
Über den Aufbau einer Gewebebank für das HNO- Fach. Arch. Oto - Rhino - Laryng. 212, 187 - 191 (1976)
- (13) E. Eitschberger
E. Dahlmeier
K. Schindler
W. Richter
Bestimmung des Quecksilbergehaltes von in Cialit konservierten Geweben. Arch. Oto - Rhino - Laryng. 212, 193 - 197 (1976)

- (14) W. Eversheim
J. Helms
E. Steinbach
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Verträglichkeit von Cialit im Gewebe. Arch. klin. exp. Ohr. - Nas. - und Kehlk. Heilkunde 759 - 761 (1971)
- (15) E. Güntz
Über eine einfache Methode der Knochenkonservierung. Langenbecks Arch. klin. Chir. 279 56 - 60 (1954)
- (16) A. Hall
Autotransplantation with buccal mucous graft in central perforations of the tympanic membrane with intact ossicular chain. Acta Oto-Laryng. (Stockholm) Suppl. 140 (1958) 286
- (17) J. Helms
Austritt von Konservierungsmitteln aus konservierten Geweben. Effusionsmessungen nach Konservierung mit Cialit und Merthiolat. HNC 20, 271 - 273 (1972)
- (18) H. Hildmann
E. Steinbach
Experimentelle Untersuchungen zur Verträglichkeit von Faszientransplantaten. Arch. klin. exp. Ohr. - Nas. - und Kehlk. Heilkunde 196 133 - 136 (1970)
- (19) J. Hochstrasser
Mündliche Mitteilung (1970)

- (20) E.F. Hoppe - Seyler
H. Thierfelder
Handbuch der physiolog.
patholog. chem. Analyse.
Ed II. Bausteine des Tier-
körpers. Springer - Verlag,
Berlin (1962) 450
- (21) J.H. Humphrey
R.G. White
Kurzes Lehrbuch der Immu-
nologie. Georg Thieme Ver-
lag Stuttgart (1972)
- (22) M. Jäger
Homologe Bindegewebstrans-
plantation. Akt. Orthopä-
die, Heft 2 Stuttgart :
G. Thieme (1970)
- (23) P. Karlson
Kurzes Lehrbuch der Bio-
chemie. Georg Thieme Verlag
Stuttgart (1970)
- (24) E.R. Kestenbauer
Experimentelle Untersuchungen
zur osteogenetischen Lei-
stungsfähigkeit der Pauken-
höhle und der Gehörknöchel-
chen nach ihrer orthotopen
Transplantation. Arch. klin.
exp. Ohr. - Nas. - und Kehlk.
Heilkunde. 203, 70 - 80 (1972)
Springer - Verlag Berlin
- (25) E.R. Kestenbauer
Die Umbauvorgänge in auto-
genen Gehörknöchelchentrans-
plantaten im Tierexperiment.
Arch. klin. exp. Ohr. - Nas. -
und Kehlk. Heilkunde 203,
58 - 69 (1972) Springer -
Verlag Berlin

- (26) E.R. Kastenbauer
Tierexperimentelle Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Transplantate im Mittelohr. Habilitationschrift (1971)
- (27) E.R. Kastenbauer
J. Hochstrasser
Der Einfluß des Konservierungsmittels Cislit auf die Proteinlöslichkeit und die Antigenizität von allo- und xenogenen Gehörknöchelchen- und Trommelfelltransplantaten. Arch. klin. exp. Ohr. - Nas. - und Kehlk. Heilkunde 203, 225 - 231 (1973) Springer - Verlag Berlin
- (28) E.R. Kastenbauer
Die Transplantation menschlicher Trommelfelle im allo- und xenogenen System. Arch. klin. exp. Ohr. - Nas. - und Kehlk. Heilkunde 203 (1973) Springer - Verlag Berlin
- (29) H. Matthi
Über freie Transplantation von Knochenspongiosa. Lengenbecks Arch. klin. Chir. 168 (1932) 236
- (30) W. Pschyrembel
Klinisches Wörterbuch mit klinischen Syndromen. Springer - Verlag Berlin (1969)
- (31) U. Reichardt
Diss. - Arbeit (1976)

- (32) I. Roitt Essentiel Immunology Blackwell Scientific Publication (1972)
- (33) R. Schenk Zur Histologie der primären Knochenheilung. Langenbecks Arch. klin. Chir. 308 (1964) 440
- (34) L. Schweiberer Experimentelle Untersuchungen von Knochentransplantaten mit unveränderter und denaturierter Knochengrundsubstanz. Hefte zur Unfallheilkunde 103 Springer - Verlag Berlin (1970)
- (35) K.E. Seiffert Biologische Grundlagen der homologen Transplantation konservierter Bindegewebe. Hefte zur Unfallheilkunde 93 Springer - Verlag Berlin (1967)
- (36) K.E. Seiffert Biological aspects of collagenous homografts. Acta Oto - Rhino - Laryng. Belgica 24 (1970) 27
- (37) E. Sieber Über Anwendung und Wert konservierter Knochentransplantate. Zbl. Chir. 80, 324 (1955)
- (38) E. Steinbach Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von homoioplastischen, in Cialit konservierten Gehörknöchelchen nach Implantation im Mittelohr des Meerschweinchens und des Menschen. Arch. klin. exp. Chir. - kas. - und Aesthet. Heilkunde 196 : 130 - 153 (1970)

- (3) Stewart Sell Immunologie, Immunpathologie
und Immunität. Verlag Chemie
(1977)
- (40) R. Timpl Antigene Eigenschaften der
Bindegewebsstrukturproteine.
Med. Mitt. (Festsungen) Bd.
43 112 : 29 - 38 (1969)
- (41) L. J. Brown Perforations of tympanic
membrane and tympanoplasty.
Closure by pericardium, a
preliminary report of 9 cases.
Arch. Oto - Rhino - Laryng.
(Chicago) 77 (1963) 81
- (42) F. Wassermann Die Differenzierung der leben-
digen Masse. Handbuch der
mikrosk. Anatom. d. Menschen,
Berlin (1929) Verh. Dtsch.
Ges. inn. Med. 65 (1959)
852

Lebenslauf

Am 22.8.1948 wurde ich, Heinrich-Georg Jöckel, als erster Sohn des Bauunternehmers Heinrich Jöckel und seiner Ehefrau Regine, geb. Osada, in Gelsenkirchen-Buer geboren.

Mit 7 Jahren wurde ich eingeschult und legte im Jahre 1969 am Albert-Schweitzer-Gymnasium in Kassel mein Abitur ab.

Ihm folgte das Medizinstudium an den Universitäten Köln und München, das ich im Dezember 1975 mit dem Staatsexamen abschloß.

Nach der Medizinalessistentenzeit und Erteilung der Approbation am 3.1.1977 leistete ich als Stabsarzt meinen Wehrdienst ab.

Seit Mai 1977 bin ich verheiratet und arbeite zur Zeit als Assistenzarzt auf der Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Weilheim.

Heinrich - Georg Jöckel

